

**Einfluß von Mykoplasmen auf die
Motilität und Fruktolyseaktivität
der Spermatozoen in Vitro**

Christoph David

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Urologischen Klinik der Universität München.

Direktor: Prof. Dr. med. Egbert Schmiedt

Einfluß von Mykoplasmen auf die Motilität und
Fruktolyseaktivität der Spermatozoen in Vitro

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnmedizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von
Christoph David

aus
Kelheim

1978

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr.med. A. Hofstetter
Mitberichterstatter:	Prof. Dr.med. E. Schmiedt
Dekan:	Prof. Dr.med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 17. 10. 1978



Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literaturüberblick	2
C. Methodik	4
1. Hemmung der Spermatozoenmotilität durch Mykoplasmen in Vitro	4
2. Einfluß von Mykoplasmen auf die Fruktolyseaktivität der Sperma- tozoen in Vitro	8
3. Elektronenmikroskopische Untersuchungen	12
D. Ergebnisse	13
1. Motilitätshemmung	13
2. Fruktolyseaktivität	18
3. Elektronenmikroskopie	28
E. Diskussion	33
F. Zusammenfassung	35
G. Literatur	36

A. Einleitung

Klinische Erfahrungen und experimentelle Untersuchungsergebnisse sprechen für die Möglichkeit einer Fertilitätsstörung durch Mykoplasmen (GNARPE und FRIBERG (4)), HOFSTETTER, VOGT und GRAF (7), O'LEARY und FRICK (13), obwohl man bis heute nicht weiß, über welche Mechanismen die Mykoplasmen Fertilitätsstörungen auslösen können. So konnten GNARPE und FRIBERG (4) zeigen, daß im Ejakulat von 104 infertilen Männern bei 92, das entspricht 89%, Mykoplasmen enthalten waren. HOFSTETTER, VOGT und GRAF (7) fanden, bei Männern mit abakterieller Adnexitis und Fertilitätsstörungen bis zu 80% Mykoplasmen. Auch O'LEARY und FRICK (13) stellten einen Zusammenhang von Fertilitätsstörungen und Mykoplasmeninfektionen fest.

Wie ließe sich eine Fertilitätsstörung durch Mykoplasmen erklären? Zunächst wäre an eine unspezifische Beeinflussung der Fertilität im Zusammenhang mit dem entzündlichen Adnexprozeß zu denken, wie dies bei bakteriellen Infektionen bekannt ist. Außerdem wären mutagene Wirkungen der Mykoplasmen auf die Spermatozoen oder immunologische Prozesse in Betracht zu ziehen. Aber auch eine direkte Einwirkung der Mykoplasmen auf die Spermatozoen muß diskutiert werden.

Aus diesem Grunde haben wir zunächst die Spermatozoenmotilität nach Mykoplasmenzusatz getestet und den Fruktoseverbrauch als Ausdruck der Stoffwechselaktivität der Spermatozoen in vitro gemessen. Darüber hinaus versuchten wir in Analogie zu den Arbeiten von FURNESS, WHITESCARVER, TROCOLA und DE MAGGIO (3) mit Hilfe elektronenmikroskopischer Untersuchungen die Lokalisation von Mykoplasmen an den Spermatozoen abzuklären, um daraus eventuell Rückschlüsse auf die Beeinflussung der Spermatozoen durch die Mykoplasmen ziehen zu können.

B. Literaturüberblick

Die Möglichkeit einer Fertilitätsstörung durch Mykoplasmen wird in der Literatur seit einiger Zeit diskutiert. BERCHTOLD und BÖGEL (1) beobachteten bereits 1962, daß bei gehäuft auftretender Azoospermie bei Bullen aus dem Ejakulat überwiegend Mykoplasmen (früher PPLO genannt) isoliert werden können. HOLZMANN und LABER (8) infizierten die Harnröhre von Hunden mit Mykoplasmen. Von sechs ursprünglich fertilen Tieren waren nach Infektion mit Mykoplasmen drei nach kurzer Zeit infertil.

HOFSTETTER, VOGT und GRAF (7) wiesen 1971 auf eine Fertilitätsstörung des Mannes durch Mykoplasmen hin. Bei 11 Patienten, bei denen nur Mykoplasmen als mögliche Ursache einer Prostatourethritis nachgewiesen werden konnten, war in keinem einzigen Fall ein normales Spermiozytogramm zu finden.

Nach BLENK (2) finden sich bei etwa 7% gesunder Männer Mykoplasmen in den vorderen Abschnitten der Harnröhre. Trotzdem müssen nach den Untersuchungen von HOFSTETTER (5, 6), MARX und HOFSTETTER (10) und BLENK (2) die Mykoplasmen als fakultative Erreger von akuten und chronischen Urethro-Adnexitiden, Cystitiden, Nebenhodenentzündungen, Morbus Reiter sowie Kolpinitiden angesehen werden.

Andere Untersuchungen von HOFSTETTER, VOGT und GRAF (7, 17, 18) ergaben, daß entzündliche Prozesse im Bereich der Urethra und Adnexe, hervorgerufen durch Mykoplasmen, eine pathologische Veränderung des Spermioграмms bewirken.

MOLNAR (11) konnte Mykoplasmen im Ejakulat infertiler Männer nachweisen. Außerdem konnte er feststellen, daß die Lebensdauer der Spermien im mykoplasmeninfiziertem Ejakulat kürzer und der pH-Wert des Ejakulats erhöht war.

FRICK und Mitarbeiter (13) untersuchten die Zusammenhänge zwischen Spermatozoenmotilität und Befall mit Mykoplasmen. Dabei konnten sie bei Patienten mit Spermatozoenmotilität unter 30% in 65 - 76% der Fälle Mykoplasmen aus dem Sperma züchten.

Auch HORNE und KUNDSIN (9) zeigten, daß nach Ausschluß anderer Infertilitätsfaktoren Mykoplasmen in vermehrtem Maße Motilitätsstörungen verursachen bzw. für die Unfruchtbarkeit verantwortlich sind.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war, den Einfluß von Mykoplasmen sowohl auf die Motilität, als auch auf die Fruktolyseaktivität der Spermatozoen zu überprüfen.

Darüberhinaus sollte mit Hilfe elektronenmikroskopischer Untersuchungen die Art und Lokalisation des "Kontaktes" zwischen Mykoplasmen und Spermatozoen geklärt werden.

C. Methodik1. Hemmung der Spermatozoenmotilität durch Mykoplasmen in Vitro.

- 1.1. Nach der Verflüssigung der frisch gewonnenen Ejakulate (20 Minuten), Volumen und pH-Wertbestimmung, wurde im Nativpräparat die Qualität des Ejakulates nach den Kriterien des Andrology Club (Tab. I und II) beurteilt. Ejakulate, die aufgrund dieser Bewertung nicht in den Normbereich fielen, wurden verworfen.

NORMALWERTE:

Normales Spermiogramm = über 40 Mill. Spermatozoen/ml
 über 60% Motilität
 über 60% normale Morphologie

qualitative Motilität = sehr gut beweglich > 40%
 mäßig beweglich 20%
 nicht beweglich < 40%

Verflüssigungszeit des Ejakulates 20 - 30 min

pH-Messung = sofort (7.0 - 7.8)

Initialfruktose > 1200µg/ml

sexuelle Karenz = 5 Tage

normale Spermatozoenmasse: Kopf 3 - 5 µ Länge
 2 - 3 µ Breite
 Mittelteil 5 - 7 µ Länge
 1 µ Breite

Empfehlung: Durchführung einer beidseitigen Hodenbiopsie unter
 10 Mill. Spermatozoen/ml

Tabelle I. Andrologische Nomenklatur nach den Richtlinien des
 Andrology Club (andrologie 2 (4) 186, 1970)

SPERMIE	=	Volumen des Spermas
Aspermie	=	kein Sperma
Hypo spermie	=	zu wenig Sperma (unter 2 ml)
Hyperspermie	=	zu viel Sperma (über 6 ml)
ZOOSPERMIE	=	Spermatozoen im Samen
Azoospermie	=	keine Spermatozoen im Samen
Oligozoospermie	=	unter 40 Mill.Spermatozoen/ml
Polyzoospermie	=	über 250 Mill.Spermatozoen/ml
Asthenozoospermie	=	herabgesetzte Motilität (unter 60% bei normaler Morphologie (> 60%))
Teratozoospermie	=	über 40% abnormale Spermato- zoen (60% normale Motilität)
Nekrozoospermie	=	alle Spermatozoen sind tot (durch Eosintest gesichert)

Tabelle II: Andrologische Nomenklatur nach den Richtlinien des
Andrology Club (andrologie 2 (4) 186, 1970)

1.2 Zur Bestimmung der Spermatozoenmotilität benutzten wir zum einen die übliche Schätzmethode mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskopes (15), zum anderen bestimmten wir das Verhältnis von beweglichen zu unbeweglichen Spermatozoen mit Hilfe der Neubauer-Zählkammer nach folgendem Auszählverfahren:

- a. 0,5 ml Ejakulat werden mit Aqua dest. in einer Leukozytenpipette auf 1,1 ml aufgefüllt. Nach fünfminütigem Rütteln erfolgt Auszählung in der Zählkammer. Die Zahl der Spermatozoen in der Zählkammer multipliziert mit 80 Mio., dividiert durch 256, ergibt die Anzahl der Spermatozoen pro ml Ejakulat (15).
- b. 0,5 ml Ejakulat werden mit Bakerlösung (15) in einer Leukozytenpipette auf 1,1 ml aufgefüllt. Nach fünfminütigem Rütteln erfolgt ebenfalls Auszählung in der Zählkammer, nach Neubauer. Hierbei wird die Zahl der unbeweglichen Spermatozoen bestimmt.

Aus der Anzahl der Gesamtspermatozoen von a) und der Zahl der unbeweglichen von b) wird das Verhältnis der beweglichen zu den unbeweglichen Spermatozoen bestimmt.

Spermatozoen gesamt, abzüglich unbeweglicher, ergibt die Anzahl der beweglichen Spermatozoen. Eine Zusammenstellung der verwendeten Ejakulate zeigt Tab. III.

- 1.3 Die Motilität wurde nach 5 und 24 Stunden Inkubation von Ejakulat (als Kontrollansatz) und einem Gemisch von mykoplasmenhaltiger Bouillon und Ejakulat (als Testansatz), sowie einem Gemisch von mykoplasmenfreier Bouillon und Ejakulat (als weiterer Kontrollansatz) bestimmt. Wir verwendeten hierbei folgende Mischungsverhältnisse:

0,4 ml Ejakulat

0,2 ml Ejakulat + 0,2 ml mykoplasmenhaltige Bouillon

0,2 ml Ejakulat + 0,2 ml mykoplasmenfreie Bouillon

Die Ejakulatkonzentration spielte in diesem Fall keine Rolle, da aus dem Verhältnis von beweglichen zu unbeweglichen Spermatozoen die absolute Beweglichkeit prozentual berechnet wurde.

Prob. Nr.	a.,	b.,	c.,	d.,	e.,	f.,	g.,
1	5,5 ml	7,2	40 30 30	70	333 - 85 310 - 115	Mio 103 --- ml	7363 - 7212 - 5125 2% 30%
2	3,2 ml	7,1	30 30 40	60	184 - 85 190 - 89 49 - 43	Mio 56,5 --- ml	4393 - 3369 - 3333 23% 24%
3	4 ml	7,2	50 30 20	80	201 - 55 - -	Mio 62,5 --- ml	3666 - 2939 - 2515 20% 31%
4	3,2 ml	7,1	70 10 20	80	162 - 23	Mio 50,5 --- ml	2636 - 1339 - 1545 26% 41%
5	3,5 ml	7,2	50 20 30	70	240 - 90 - 130 - 117	Mio 75 --- ml	4013 - 3388 - 3322 16% 17%
6	4,9 ml	7,2	30 30 40	60	387 - 95 380 - 125 -	Mio 120 --- ml	3985 - 3800 - 2644 5% 34%
7	3,9 ml	7,3	60 20 20	80	210 - 90 207 - 109 -	Mio 65 --- ml	4565 - 4384 - 3260 4% 29%
8	5,3 ml	7,2	20 30 50	50	205 - 100 205 - 108 206 - 120	Mio 64 --- ml	5500 - 5333 - 4527 3% 18%
9	4,4 ml	7,2	50 20 30	70	186 - 84 159 - 91 -	Mio 58 --- ml	2193 - 2060 - 1612 6% 17%
10	2,6 ml	7,4	30 20 50	50	226 - 110 - -	Mio 70,5 --- ml	5361 - 5250 - 4581 2% 15%
11	4,3 ml	7,4	40 20 40	60	173 - 80 - -	Mio 54 --- ml	4138 - 3166 - 3055 23% 26%
12	6,0 ml	7,2	40 30 30	70	228 - 77 - -	Mio 71 --- ml	4051 - 3828 - 2851 6% 30%
13	4,5 ml	7,1	40 10 50	50	145 - 54 90 - 62 80 - 60	Mio 41,5 --- ml	-----
14	4,8 ml	7,2	50 10 40	60	220 - 105 141 - 89 120 - 95	Mio 70 --- ml	-----
15	5 ml	7,2	40 10 50	50	534 - 260 525 - 330 335 - 250	Mio 160 --- ml	-----

Tabelle III:

Übersicht über Untersuchungsbefunde der verwendeten Ejakulate

zu a : Volumenbestimmung

zu b : pH-Wertbestimmung

zu c : Schätzmethode mit Hilfe des Phasenkontrast-
mikroskops (sehr gut, gut, unbeweglich) in %

zu d : Gesamtzahl der beweglichen Spermatozoen in %

zu e : Verhältnis der Gesamtspermatozoenzahl
zur Anzahl der unbeweglichen Sperma-
tozoen (sofort, nach 5 Std., nach 24 Std.)

zu f : Anzahl der Spermatozoen pro ml Ejakulat

zu g : Fruktosekonzentration in Gamma/ml (sofort,
nach 5 Std., nach 24 Std.,)
Fruktoseverbrauch nach 5 Std. und 24 Std.
in %

Folgende Mykoplasmenstämme wurden getestet:

Mykoplasma hominis
 Ureaplasma urealyticum
 Mykoplasma fermentans
 Mykoplasma orale
 Mykoplasma gallisepticum

Außerdem wurde ein Testansatz mit Mykoplasma pneumoniae gemacht.

Die Keimeinsaat betrug bei allen verwendeten Mykoplasmenstämmen 10^8 Gamma/ml Bouillon.

2. Einfluß von Mykoplasmen auf die Fruktolyseaktivität der Spermatozoen in Vitro.

2.1. Voruntersuchungen

2.1.1. Bestimmung des Glukose und Fruktosegehaltes der Mykoplasmen in Bouillon

Wir bestimmten sowohl den Gesamtzucker (Glukose und Fruktose) mit der enzymatischen Bestimmungsmethode nach NENNSTIEL (12), als auch den speziellen Fruktoseanteil mit der kolorimetrischen Methode (SCHILL (14)), deren Prinzip auf einer Farbreaktion beruht, die Fruktose mit Resorcin eingeht.

Enzymatische Bestimmungsmethode:

Zu 20 µl Mykoplasmenbouillon gibt man 200 µl 0,33 Perchlorsäure, schüttelt die Lösung 30 Sek. und zentrifugiert anschließend 1 Min. bei 15 000 g. Für die Standardlösung verwendet man anstelle von Mykoplasmenbouillon 20 µl Standard-Gebrauchslösung, für die Blindlösung 20 µl Aqua dest.. Vom jeweiligen Überstand werden 50 µl zu 500 µl Reaktionsgemisch (Glukose-Testkombination Boehringer 15994 TGAA) gegeben, 30 Sek. geschüttelt und dann 15 Minuten stehen gelassen. Dann gibt man jeweils 5 µl Phosphoglukose-Isomerase dazu, mischt gut durch

und mißt nachdem die Reaktion zum Stillstand gekommen ist (10 - 15 Min.) bei 366 nm in MT-2-Kuvette bei 1 cm Schichtdicke gegen Wasser. Die Konzentration Gamma/ml erhält man, wenn man $\text{Extinct.}/\text{Probe} - \text{Extinct.}/\text{Standard} \cdot 6830$ setzt.

Kolorimetrische Bestimmungsmethode:

0,1 ml Ejakulat, in der Blutzuckerpipette aufgezogen, werden mit Aqua dest. im Reagenzglas auf 0,4 ml aufgefüllt. Dazu gibt man 2,0 ml 10 %ige Zinksulfatlösung und 2,0 ml 0,1 n Natronlauge. Diese Lösung wird 2 Min. im Wasserbad (kochend) erhitzt, in kaltem Wasser abgekühlt und dann filtriert. Vom klaren Filtrat nimmt man 2,0 ml, gibt dazu 2,0 ml 0,1 %ige alkoholische Resorcinlösung und 6,0 ml 37 %ige Salzsäure. Für einen Blindwert, gegen den die Versuchslösung photometriert wird, nimmt man anstelle des Filtrats 2,0 ml gesättigte Benzoesäurelösung. Nach kräftigem Schütteln stellt man die Reagenzgläser 8 Minuten in ein Wasserbad von 80°C und kühlt anschließend unter fließendem Wasser. Photometriert wird der Vollwert gegen den Blindwert bei 10 mm Schichtdicke und Filter S 49 (Photometer Eppendorf) SCHIREN (15).

2.1.2. Glukoseverbrauch von Mykoplasmen (am Beispiel Mykoplasma hominis)

Zu 0,2 ml Glukoselösung (Konzentration 5000 Gamma/ml) gaben wir 0,2 ml Mykoplasmen in Bouillon. (Konzentration Glukose 1875 Gamma/ml. Fruktose 625 Gamma/ml). Der Ansatz (0,4 ml hatte demnach folgende Konzentration:

Fruktose	312 Gamma/ml	=	9%
Glukose	3438 Gamma/ml	=	91%

Gesamtzucker	3750 Gamma/ml	=	100%
--------------	---------------	---	------

Wie bei 2.1.1. bestimmten wir die Gesamtzuckerkonzentration sowie die Fruktosekonzentration der Lösung, und zwar nach 5 Stunden und nach 24 Stunden.

2.1.3. Fruktoseverbrauch von Mykoplasmen

(am Beispiel Mykoplasma hominis)

Zu 0,2 ml Fruktoselösung (Konzentration 5000 Gamma/ml) gaben wir 0,2 ml Mykoplasmen in Bouillon. (Konzentration Glukose 1875 Gamma/ml, Fruktose 625 Gamma/ml).

Der Ansatz hatte demnach folgende Konzentrationen:

Fruktose	2812 Gamma/ml	= 75%
Glukose	938 Gamma/ml	= 25%
Gesamtzucker	3750 Gamma/ml	= 100%

Wir bestimmten die Gesamtzuckerkonzentration und die Fruktosekonzentration nach 5 Stunden und nach 24 Stunden.

2.1.4. Fruktolyseaktivität von Mykoplasmen

Zu 0,2 ml Spermaplasma (Fruktosekonzentration 3000 Gamma/ml) gaben wir 0,2 ml Mykoplasmen in Bouillon (Glukose 1875 Gamma/ml, Fruktose 625 Gamma/ml)

Gesamtlösung (0,4 ml) enthielt also:

Fruktose	1812 Gamma/ml	= 66%
Glukose	938 Gamma/ml	= 34%
Gesamtzucker	2750 Gamma/ml	= 100%

Wir bestimmten sowohl Gesamtzuckerkonzentration als auch Fruktosekonzentration nach 5 Stunden und nach 24 Stunden.

2.2. Bestimmung der Fruktolyseaktivität von Spermatozoen unter Mykoplasmeneinfluß.

Die Fruktosekonzentrationen im Spermaplasma wurden sofort, nach 5 Stunden und nach 24 Stunden Inkubation in einem Gemisch von mykoplasmenfreier Bouillon und Ejakulat (als Kontrollansatz), sowie einem Gemisch von mykoplasmenhaltiger Bouillon

und Ejakulat (Testansatz) gemessen. Wir verwendeten hierbei die gleichen Mischungsverhältnisse wie in den Voruntersuchungen, nämlich 0,2 ml Ejakulat + 0,2 ml Bouillon, bzw. 0,2 ml Ejakulat + 0,2 ml Mykoplasmen in Bouillon.

Als zusätzliche Kontrolle wurde der Fruktoseverbrauch der einzelnen Ejakulate nach 5 und 24 Stunden gemessen.

Die Fruktosebestimmungen wurden enzymatisch nach der Methode von NENNSTIEL (12) durchgeführt. Der Glukoseanteil der Bouillon konnte aus dem jeweiligen Ansatz nicht eliminiert werden. Er betrug durchschnittlich 900 Gamma/ml. Wegen des geringen Glukoseverbrauchs durch Mykoplasmen wurde er vernachlässigt.

Insgesamt wurden 12 Ejakulate mit verschiedenen Mykoplasmenstämmen beimpft (Tab. V). Es handelte sich hierbei um die gleichen Ejakulate, bei denen die Motilitätsbestimmungen durchgeführt wurden (Tab. III, Nr. 1 - 12). Im einzelnen handelte es sich um folgende Mykoplasmenstämme:

Mykoplasma gallisepticum

Mykoplasma orale

Mykoplasma hominis

Mykoplasma fermentans

Mykoplasma urealyticum

Die Mykoplasmen waren die gleichen wie für die Motilitätsbestimmungen. Die Keimeinsaat betrug ebenfalls 10^6 Gamma/ml Bouillon.

Die Ansätze sowohl für die Motilitätsbestimmungen als auch für die Bestimmung der Fruktolyseaktivitäten wurden zur gleichen Zeit erstellt.

3. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Die transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen stammen aus einem Gemisch von 0,4 ml Ejakulat und 0,4 ml mykoplasmenhaltiger Bouillon. Die verwendeten Mykoplasmenstämme waren *Mykoplasma gallisepticum*, *Mykoplasma fermentans* und *Mykoplasma hominis*. Die Kontrollaufnahmen wurden aus frisch gewonnenem Ejakulat angefertigt. Die Ansätze standen 5 Stunden bei 22 Grad im Wasserbad, wurden dann zweimal in 0,9 %iger NaCl gewaschen und mit 600 g zentrifugiert. Die Pellets wurden dann nach STEFANINI (16) in einer gepufferten Mischung aus Formaldehyd mit Pikrinsäure 1 Std. bei 20 Grad fixiert, in 0,1 M Phosphatpuffer mit 0,1 M Succrosezusatz gewaschen und mit 1 %ig gepuffertem O_3 nachfixiert. Nach dem Waschen und Dehydrieren wurden kleine Stücke der Pellets in Epon eingebettet, mit Diamantmessern auf einem Reichert Ultramikroton (O m U_3) geschnitten und im Elektronenmikroskop Philips EM 300 photographiert.

D. Ergebnisse1. Motilitätshemmung (Übersichtstabelle)

- 1.1. Tabelle V ist die Zusammenstellung der gesamten Kontroll- und Testansätze, wobei die jeweilige Motilität bereits in Prozent angegeben ist. Die Gesamtzahl der Testansätze betrug 35, bedingt durch das Beimpfen der 15 Ejakulate mit verschiedenen Mykoplasmenstämmen.

	a.	b.	c.	d.	e.	f.	g.	
1.	74%	61%	44%	22%	21%			
2.	54%	53%	38%	12%	8%			
3.	75%	67%	47%	49%	23%			
4.	75%	67%	45%	49%	20%			
5.	57%	47%	28%					
6.	51%	47%	25%	42%	3%	48%		
7.	55%	43%	19%					Mykoplasma- hominis
8.	55%	43%	31%					
9.	51%	40%	2%					
10.	54%	44%	31%					
11.	57%	47%	24%					
12.	52%	37%	20%	20%	12%	47%	36%	
13.	49%	31%	16%	21%	10%	32%	19%	
14.	42%	37%	2%			41%		
15.	75%	67%	44%					
16.	75%	67%	52%					
17.	57%	47%	22%					Ureaplasma urealyticum
18.	57%	47%	28%					
19.	51%	47%	21%			48%		
20.	51%	40%	35%					
21.	42%	37%	5%			41%		
22.	42%	37%	12%			41%		
23.	54%	44%	20%					
24.	66%	49%	17%			52%		Mykoplasma fermentans
25.	49%	32%	22%	20%	14%	32%	20%	
26.	42%	37%	15%			41%		

	a.	b.	c.	d.	e.	f.	g.	
27.	66%	49%	16%			52%		
28.	49%	31%	27%	20%	10%	32%	20%	Mykoplasma
29.	52%	37%	16%	20%	7%	47%	36%	orale
30.	42%	37%	8%			41%		
31.	42%	37%	13%			41%		
32.	52%	37%	27%	20%	17%	47%	36%	Mykoplasma
33.	49%	31%	32%	20%		32%	20%	gallisepticum
34.	42%	37%	5%			41%		
35.	42%	37%	10%			41%		Mykoplasma pneumoniae

Tabelle IV: Zusammenstellung sämtlicher Test- und Kontrollansätze. Die Motilität ist in Prozent angegeben.

- zu a. : Kontrollansatz: Beweglichkeit der Spermatozoen des jeweiligen Ejakulates sofort.
- zu b. : Kontrollansatz: Beweglichkeit nach 5 Stunden.
- zu c. : Testansatz: Beweglichkeit bei sofortigem Mykoplasmenzusatz nach 5 Stunden.
- zu d. : Kontrollansatz: Beweglichkeit nach 24 Stunden.
- zu e. : Testansatz: Beweglichkeit bei sofortigem Mykoplasmenzusatz nach 24 Stunden.
- zu f. : Zusätzlicher Kontrollansatz: Beweglichkeit bei sofortigem Bouillonzusatz nach 5 Stunden.
- zu g. : Zusätzlicher Kontrollansatz: Beweglichkeit bei sofortigem Bouillonzusatz nach 24 Stunden.

Aus technischen Gründen konnten die Ansätze d., - g., nicht bei allen Ejakulaten durchgeführt werden.

1.2. Motilitätshemmung

1.2.1. Alle Mykoplasmenansätze (Anzahl N = 35)

Der Durchschnittswert der Motilität der Ejakulate ohne Mykoplasmenzusatz betrug bei sofortiger Auszählung 54%. Nach 5 Stunden waren noch 44% der Spermatozoen beweglich. Die Testansätze mit Mykoplasmenzusatz zeigten nach 5 Stunden nur noch eine durchschnittliche Beweglichkeit von 23%.

Nach 24 Stunden waren von den Testansätzen 13% beweglich, während die Kontrollansätze noch 26% bewegliche Spermatozoen aufwiesen (Abb. 1).

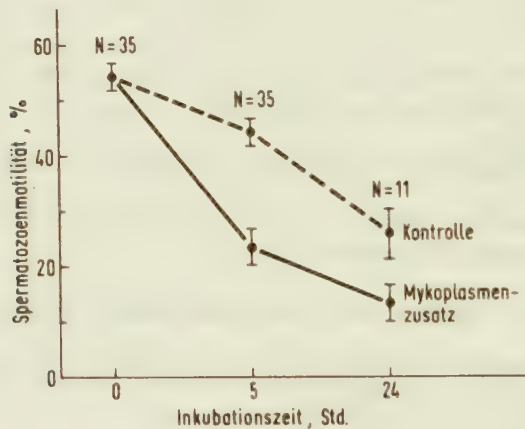


Abb. 1: In Vitro Hemmung der Spermatozoenmotilität durch Mykoplasmen (alle Stämme).

Die unterschiedliche Anzahl der Ansätze nach 5 Stunden (N = 35) und nach 24 Stunden (N = 11) ist nicht selektiert, sondern aus technischen Gründen willkürlich gewählt.

Wir setzten die Motilität der Kontrollansätze nach 5 Stunden und nach 24 Stunden jeweils mit 100% an und bezogen darauf die Motilität der Testansätze. Daraus ergab sich der absolute

Motilitätsverlust unter dem Einfluß von Mykoplasmen.

Er betrug

nach	5 Stunden	48%
nach	24 Stunden	50%

Die statistische Auswertung zeigte, daß die Motilitätshemmung nach einer 5 und 24-stündigen Inkubationsperiode, bezogen auf die Kontrollansätze signifikant war ($p < 0,005$).

1.2.2. Mykoplasma hominis (Anzahl N = 14)

Durchschnittswert der Motilität der Ejakulate:

sofort	57%
nach 5 Stunden	47%
nach 24 Stunden	31%

Testansatz mit Mykoplasma hominis

nach 5 Stunden	27%
nach 24 Stunden	14% (Abb. 2)

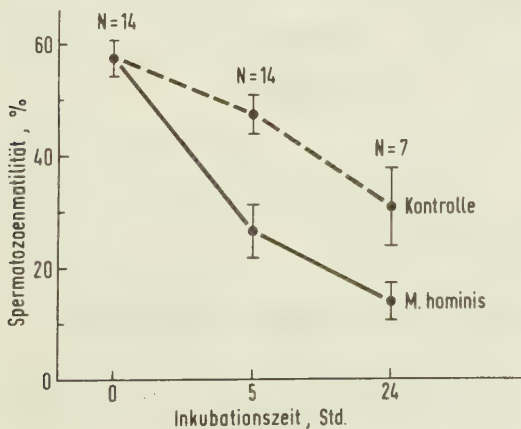


Abb. 2: In Vitro Hemmung der Spermatozoenmotilität durch Mykoplasma hominis

Der absolute Motilitätsverlust betrug:

nach 5 Stunden	44%
nach 24 Stunden	55%

1.2.3. Ureaplasma urealyticum (Anzahl N = 8)

Durchschnittswert der Motilität der Ejakulate

sofort	56%
nach 5 Stunden	49%

Testansatz mit Ureaplasma urealyticum

nach 5 Stunden	27%
----------------	-----

(siehe Abb. 3)

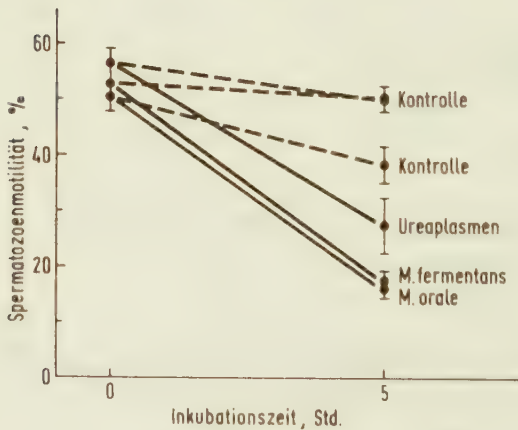


Abb. 3: In Vitro Hemmung der Spermatozoenmotilität durch *M. fermentans* (N = 4), *Ureaplasmen* (N = 8) *M. orale* (N = 5).

Der absolute Motilitätsverlust betrug nach 5 Stunden 45%.

1.2.4. Mykoplasma fermentans (Anzahl N = 4)

Durchschnittswert der Motilität der Ejakulate

sofort	53%
nach 5 Stunden	50%

Testansatz mit Mykoplasma fermentans

nach 5 Stunden	18%
----------------	-----

(siehe Abb. 3)

Der absolute Motilitätsverlust betrug nach 5 Stunden 65%.

1.2.5. Mykoplasma orale (Anzahl N = 5)

Durchschnittswert der Motilität der Ejakulate:

sofort	50%
nach 5 Stunden	38%

Testansatz mit Mykoplasma orale

nach 5 Stunden	16%
----------------	-----

(siehe Abb. 3)

Der absolute Motilitätsverlust betrug nach 5 Stunden 58 %.

24 Stundenwerte waren bei 1.2.3., 1.2.4. und 1.2.5. aus technischen Gründen nicht möglich.

2. Fruktolyseaktivität

2.1. Ergebnisse der Voruntersuchungen

2.1.1. Die Gesamtzuckerwerte der Bouillon lagen zwischen 2400 Gamma/ml und 2600 Gamma/ml. Als Durchschnittswert für die weiteren Untersuchungen nahmen wir 2500 Gamma/ml.

Die Fruktosewerte lagen zwischen 600 Gamma/ml und 650 Gamma/ml. Als Durchschnittswert nahmen wir 625 Gamma/ml.

Fruktose	625 Gamma/ml	=	25 %
Glukose (Gesamtzucker ab- züglich Fruktose)	1875 Gamma/ml	=	75 %
Gesamtzucker	2500 Gamma/ml	=	100 %

Der Gesamtzucker der Bouillon bestand also zu 75% aus Glukose und zu 25% aus Fruktose.

2.1.2. Gesamtzuckerkonzentration

sofort	nach 5 Std.	nach 24 Std.
3750 Gamma/ml	3375 Gamma/ml	3187 Gamma/ml
Verbrauch:	375 Gamma/ml = 10%	563 Gamma/ml = 14%

Fruktosekonzentration

sofort	nach 5 Std.	nach 24 Std.
312 Gamma/ml	0	0
Verbrauch:	312 Gamma/ml (gesamte Fruktose ver- braucht)	

Die Fruktose war bereits nach 5 Stunden vollständig verbraucht. Der Glukoseverbrauch betrug nach 5 Stunden 1%, nach 24 Stunden 5%.

2.1.3. Gesamtzuckerkonzentration

sofort	nach 5 Std.	nach 24 Std.
3750 Gamma/ml	3140 Gamma/ml	2775 Gamma/ml
Verbrauch	610 Gamma/ml = 16%	975 Gamma/ml = 26%

Fruktosekonzentration

Sofort	nach 5 Std.	nach 24 Std.
2812 Gamma/ml	2249 Gamma/ml	1884 Gamma/ml
Verbrauch (relativ)	563 Gamma/ml = 20%	928 Gamma/ml = 33%

Aus der Differenz von Gesamtverbrauch und relativem Fruktoseverbrauch ergab sich der relative

Glukosverbrauch nach 5 Std.	47 Gamma/ml von 938 Gamma/ml =	5%
nach 24 Std.	47 Gamma/ml von 938 Gamma/ml =	5%

Absoluter Fruktose und Glukoseverbrauch bezogen auf Anfangskonzentration von 3750 Gamma/ml.

Fruktose	nach 5 Stunden	15%
	nach 24 Stunden	25%
Glukose	nach 5 Stunden	1%
	nach 24 Stunden	1%

2.1.4. Gesamtzuckerkonzentration

sofort	nach 5 Stunden	nach 24 Stunden
2750 Gamma/ml	2280 Gamma/ml	2036 Gamma/ml
Verbrauch	470 Gamma/ml = 17%	714 Gamma/ml = 26%

Fruktosekonzentration

sofort	nach 5 Stunden	nach 24 Stunden
1812 Gamma/ml	1369 Gamma/ml	1169 Gamma/ml
Verbrauch (relativ)	443 Gamma/ml = 24%	643 Gamma/ml = 35%

Aus der Differenz von Gesamtverbrauch und relativem Fruktoseverbrauch ergab sich relativer Glukoseverbrauch:

Nach 5 Std.	27 Gamma/ml von 938 Gamma/ml =	3%
Nach 24 Std.	71 Gamma/ml von 938 Gamma/ml =	7%

Absoluter Fruktose und Glukoseverbrauch

Fruktose

nach 5 Std.	443 Gamma/ml von 2750 Gamma/ml =	16%
nach 24 Std.	643 Gamma/ml von 2750 Gamma/ml =	23%

Glukose

nach 5 Std.	27 Gamma/ml von 2750 Gamma/ml = 1 %
nach 24 Std.	71 Gamma/ml von 2750 Gamma/ml = 2,5%

Der Glukoseverbrauch durch Mykoplasmen (nach 5 Stunden 1% und nach 24 Stunden 2,5%) ist im Vergleich zur Fruktolyseaktivität der Mykoplasmen unerheblich. Deswegen wurde er in den folgenden Ergebnissen nicht zusätzlich bestimmt.

2.2. Fruktolyseaktivität der Spermatozoen unter dem Einfluß der einzelnen Mykoplasmenstämme.

Die Tabelle V gibt eine Übersicht sämtlicher Kontroll- und Testansätze. Durch das Beimpfen der 12 Ejakulate mit verschiedenen Mykoplasmenstämmen erhielten wir insgesamt 25 Testansätze. Die Fruktosekonzentration ist in Gamma/ml angegeben. (Erste Zeile Konzentration sofort, zweite Zeile nach 5 Stunden, dritte Zeile nach 24 Stunden). In Klammern steht der Fruktoseverbrauch nach der jeweiligen Inkubationszeit.

- a) Erster Kontrollansatz (Ejakulat).
- b) Zweiter Kontrollansatz (0,2 ml Bouillon + 0,2 ml Ejakulat).
- c) Testansatz (0,2 ml Ejakulat + 0,2 ml Mykoplasma gallisepticum in Bouillon).
- d) Testansatz (0,2 ml Ejakulat + 0,2 ml Mykoplasma orale).
- e) Testansatz (0,2 ml Ejakulat + 0,2 ml Mykoplasma hominis).
- f) Testansatz (0,2 ml Ejakulat + 0,2 ml Ureaplasma urealyticum).
- g) Testansatz (0,2 ml Ejakulat + 0,2 ml Mykoplasma fermentans).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	20
7363	4393	3666	2636	4013	3985	4565	5500	2193	5361	4138	4051
a. 7212 (2%)	3369 (23%)	2939 (20%)	1939 (26%)	3388 (16%)	3800 (5%)	4384 (4%)	5333 (3%)	2064 (6%)	5250 (2%)	3166 (23%)	3828 (6%)
5125 (30%)	3333 (24%)	2515 (31%)	1545 (41%)	3322 (17%)	2644 (34%)	3260 (29%)	4527 (18%)	1612 (17%)	4581 (15%)	3055 (26%)	2851 (30%)
6058	4053	3370	2537	3994	3806	4302	5125	1921	5068	4184	3920
b. 5937 (2%)	3121 (23%)	2696 (20%)	1878 (26%)	3355 (16%)	3768 (1%)	4130 (4%)	4972 (3%)	1806 (6%)	4916 (3%)	3222 (23%)	3685 (6%)
4656 (24%)	3030 (25%)	2545 (24%)	1575 (38%)	3026 (24%)	2500 (34%)	3115 (28%)	4472 (13%)	1580 (18%)	4444 (13%)	3000 (29%)	2800 (29%)
c. 4053		3370									
	2760 (32%)	2030 (40%)									
	2392 (41%)	1818 (46%)									
6058		3370		3994							3920
d. 3562 (41%)		2484 (26%)		2269 (43%)							3257 (17%)
3218 (47%)		1840 (45%)		2730 (32%)							2651 (32%)
6058	4053		2537		3806	4302	5125	1921	5068	4184	
e. 2060 (66%)	2760 (32%)		969 (62%)		3369 (11%)	3224 (25%)	3805 (26%)	1548 (19%)	3250 (36%)	2777 (34%)	
2000 (67%)	2453 (39%)		909 (64%)		2681 (23%)	3007 (30%)	2861 (44%)	1193 (38%)	2944 (42%)	2222 (47%)	
f. 6058					3806	4302	5125		5068		
					3224 (15%)	3768 (12%)	4583 (11%)		3916 (23%)		
					2608 (32%)	2898 (33%)	4305 (16%)		3611 (25%)		
6058		3370	2537	3994						4184	3920
g. 4030 (33%)		2666 (21%)	1242 (51%)	2631 (34%)						2777 (34%)	3200 (18%)
3272 (46%)		2303 (32%)	1151 (55%)	2565 (36%)						1694 (60%)	2485 (37%)

Tabelle V

Ergebnisse differenziert nach Mykoplasmenstämmen

2.2.1. Mykoplasma gallisepticum (Anzahl der Testansätze
N = 2)

Fruktoseverbrauch	nach 5 Std.	nach 24 Std.
Ejakulat	22%	27%
Bouillon + Ejakulat	21%	25%
Mykoplasmen + Ejakulat	36%	43%
Mehrverbrauch nach 5 Std.	15%, nach 24 Std. 18%	
(Siehe Abb. 4)		

2.2.2. Mykoplasma orale (Anzahl N = 4)

Fruktoseverbrauch	nach 5 Std.	nach 24 Std.
Ejakulat	12%	26%
Bouillon + Ejakulat	11%	25%
Mykoplasmen + Ejakulat	29%	40%

Mehrverbrauch nach 5 Stunden 17%, nach 24 Stunden 15% (siehe Abb. 5).

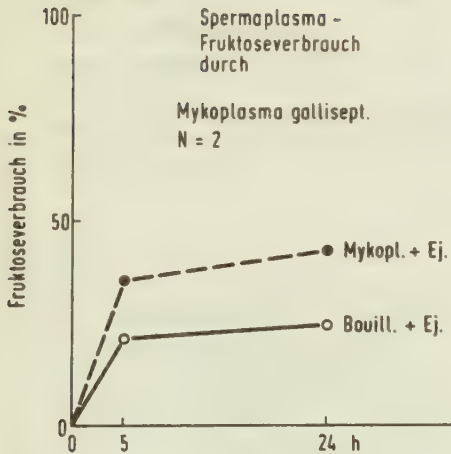


Abb. 4: Spermoplasma Fructoseverbrauch durch Mykoplasma gallisepticum (N = 2).

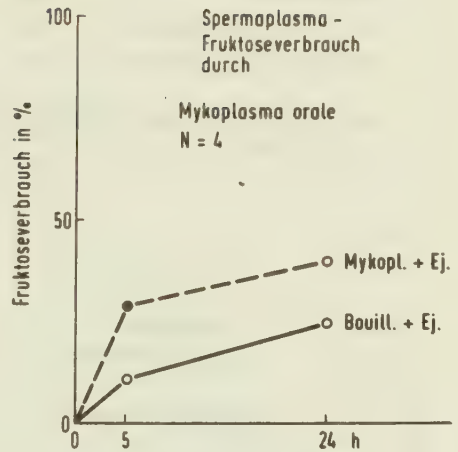


Abb. 5: Spermoplasma Fructoseverbrauch durch Mykoplasma orale (N = 4).

2.2.3. Mykoplasma hominis (Anzahl N = 9)

Fructoseverbrauch	nach 5 Std.	nach 24 Std.
Ejakulat	10%	26%
Bouillon + Ejakulat	10%	25%
Mykoplasmen + Ejakulat	35%	40%

Mehrverbrauch nach 5 Stunden 25%, nach 24 Stunden 20%
(Siehe Abb. 6).

2.2.4. Ureaplasma urealyticum (Anzahl N = 4)

Fruktoseverbrauch	nach 5 Std.	nach 24 Std.
Ejakulat	4%	24%
Bouillon + Ejakulat	3%	22%
Mykoplasmen + Ejakulat	16%	28%

Mehrverbrauch nach 5 Std. 13%, nach 24 Std. 6 %
(Siehe Abb. 7).

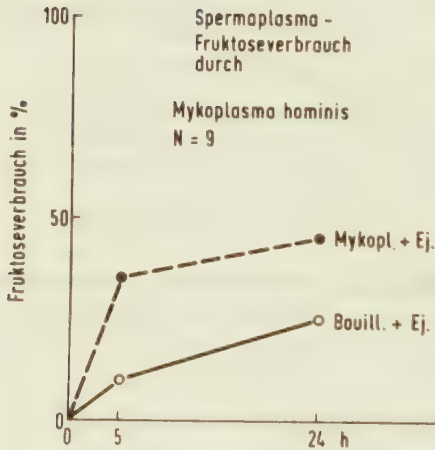


Abb. 6: Spermaplasma-Fruktose-
verbrauch durch Myko-
plasma hominis
(N = 9).

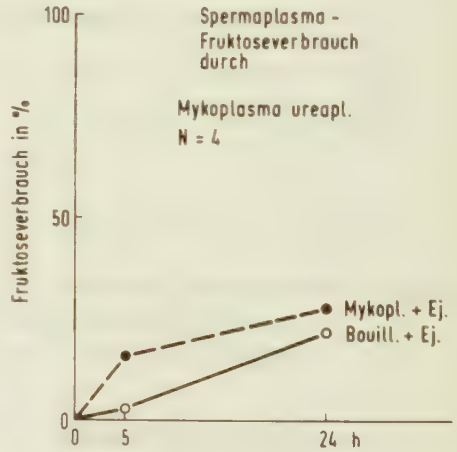


Abb. 7: Spermaplasma-Frukto-
verbrauch durch Urea-
plasma urealyticum
(N = 4).

2.2.5. Mykoplasma fermentans (Anzahl N = 6)

Fruktoseverbrauch	nach 5 Std.	nach 24 Std.
Ejakulat	16%	29%
Bouillon + Ejakulat	16%	28%
Mykoplasmen + Ejakulat	31%	44%

Mehrverbrauch nach 5 Std. 15%, nach 24 Std. 16%
(Siehe Abb. 8).

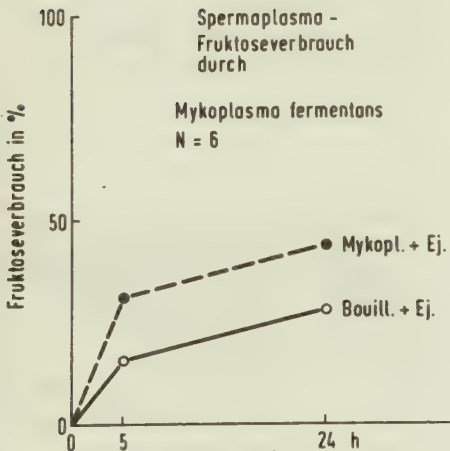


Abb. 8: Spermaplasma-Fruktoseverbrauch durch Mykoplasma fermentans (N = 6).

Der 1. Kontrollansatz (Ejakulat) wurde in die Diagramme nicht eingezeichnet, da er mit dem 2. Kontrollansatz (Bouillon + Ejakulat) nahezu identisch ist. Der unterschiedliche Fruktoseverbrauch der Kontrollansätze nach 5 Std. ist durch die unterschiedliche Aktivität der Spermatozoen der einzelnen Ejakulate zu erklären.

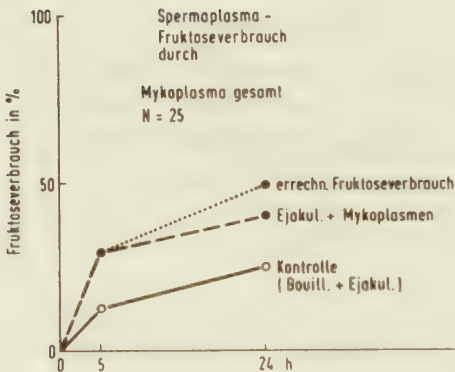
2.2.6. Mykoplasmen gesamt (Anzahl N = 25)

Fruktoseverbrauch	nach 5 Std.	nach 24 Std.
Ejakulat	12%	26%
Bouillon + Ejakulat	12%	25%
Mykoplasmen + Ejakulat	29%	40%

Mehrverbrauch nach 5 Std. 17% nach 24 Std. 15 %

(Siehe Abb. 9).

Abb. 9: Spermaplasma-Fruktoseverbrauch durch Mykoplasmen (N = 25) (sämtliche Mykoplasmenansätze)



Mykoplasmen verbrauchten durchschnittlich nach 5 Std. 16% und nach 24 Std. 26% Fruktose bei einer Anfangskonzentration von 3750 Gamma/ml (siehe Voruntersuchungen). Bei unseren Ansätzen lag die durchschnittliche Anfangskonzentration bei 4150 Gamma/ml. Umgerechnet auf diese Anfangskonzentration verbrauchten Mykoplasmen nach 5 Std.

16%, nach 24 Std. 24% Fruktose. Wir addierten den Fruktoseverbrauch der Mykoplasmen und erhielten einen Fruktoseverbrauch von 49% nach 24 Stunden (Siehe Abb. 9, errechneter Fruktoseverbrauch). Der Testansatz verbrauchte 9% weniger Fruktose.

3. Elektronenmikroskopie

Die Abbildungen 10 und 11 zeigen jeweils einen normalen Spermatozoenkopf in unterschiedlicher Vergrößerung.

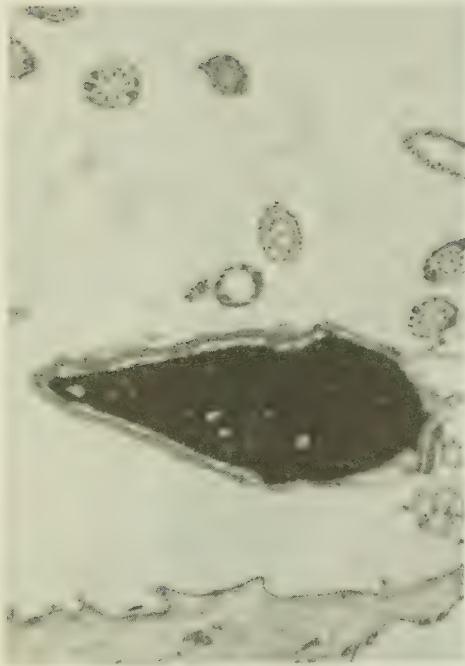


Abb. 10: Normaler Spermatozoenkopf (Elektronenmikroskopie Vergr. 21 700)



Abb. 11: Normaler Spermatozoenkopf (Elektronenmikroskopie Vergr. 31 600)

Aus Abbildung 12 geht ein deutlicher Kontakt von *Mykoplasma gallisepticum* mit Strukturen der Zellmembranen von Spermatozoen hervor. Auffallend hierbei sind die ausgeprägten Zelldestruktionen und autolytischen Veränderungen.

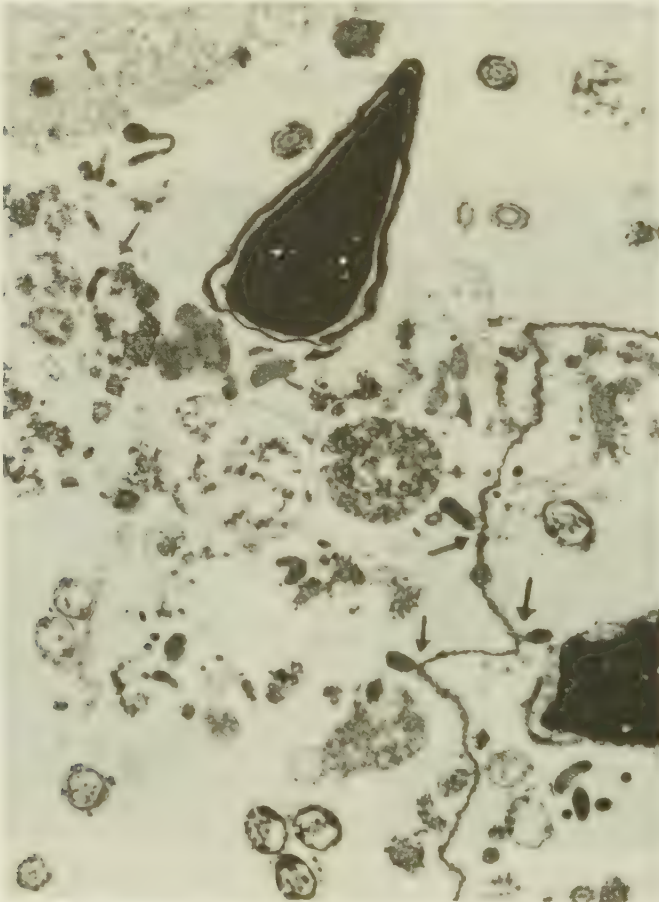


Abb. 12: *Mykoplasma gallisepticum* in engem Kontakt mit Zellmembranen der Spermatozoen.
(Elektronenmikroskopie Vergr. 19 000).

Bei der Abbildung 13 handelt es sich um einen vergrößerten Ausschnitt aus Abbildung 12. Man erkennt an den Kontaktstellen mit den Zellmembranen eine saugnapfähnliche oder blütenförmige Ausstülpung der Mykoplasmen.

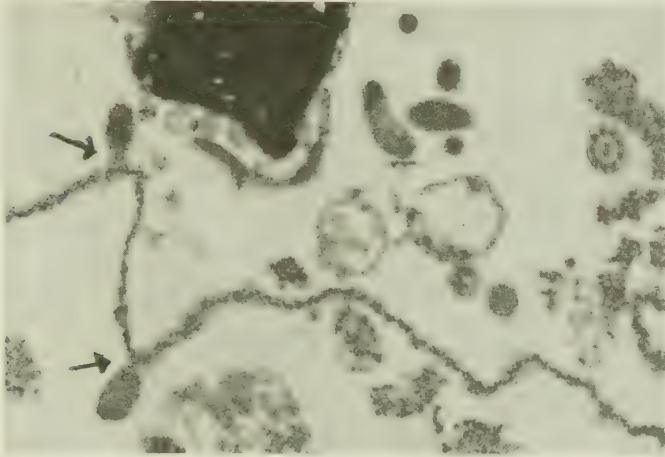


Abb. 13: Ausschnitt aus Abb. 12
(Elektronenmikroskopie Vergr. 37 000)

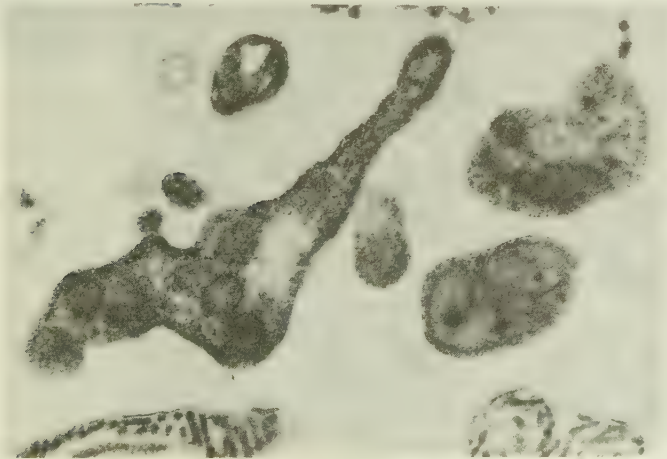


Abb. 14: Mykoplasma gallisepticum
(Elektronenmikroskopie Vergr. 46 000)

Die Abbildung 15 zeigt *Mykoplasma hominis* in Kontakt mit einem Spermium. Auffallend ist wiederum die "Saugnapfbildung". Die Anheftungsstelle befindet sich im Halsbereich.

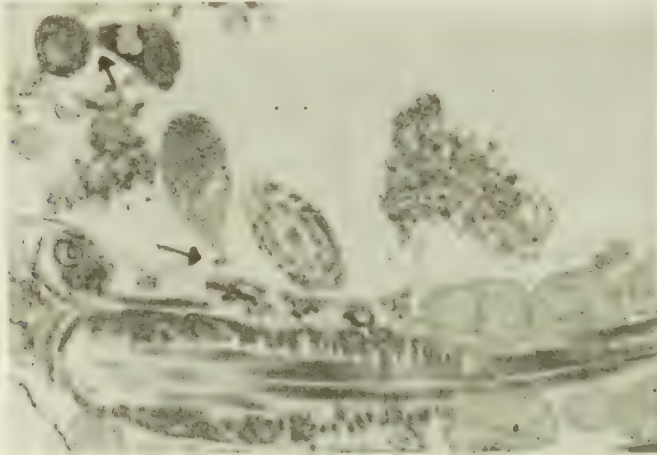


Abb. 15: *Mykoplasma hominis* in Kontakt mit Spermium.
 (Elektronenmikroskopie Vergr. 49 300)

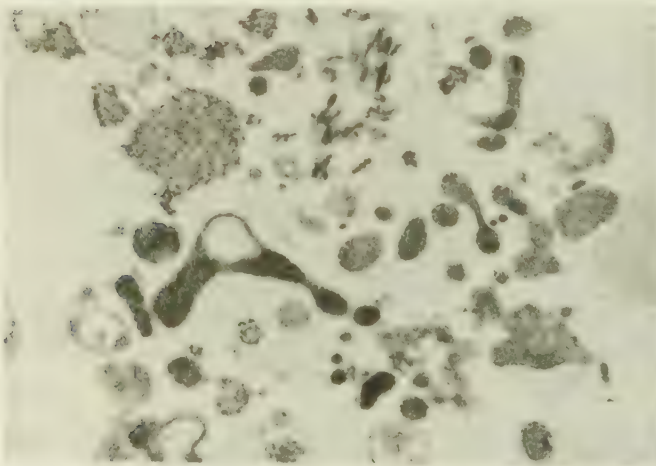


Abb. 16: *Mykoplasma fermentans*
 (Elektronenmikroskopie Vergr. 30 000)

Aus Abbildung 17 geht eine deutliche Ansammlung von Mykoplasma fermentans im Kopf und Halsbereich von Spermatozoen hervor.

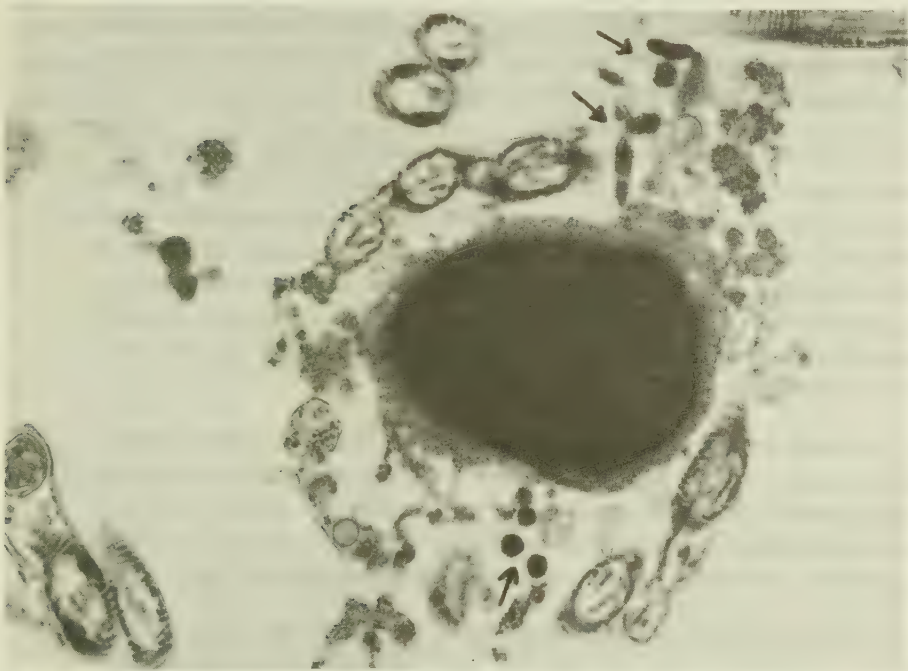


Abb. 17: Mykoplasma fermentans im Kopf- und Halsbereich von Spermatozoen.
(Elektromikroskopie Vergr. 28 200)

E. D i s k u s s i o n

Bei unseren in Vitro-Untersuchungen fanden wir eine signifikante Motilitätshemmung der Spermatozoen durch Mykoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, Mykoplasma fermentans, Mykoplasma orale und Mykoplasma gallisepticum - ein Befund, der sehr gut mit den klinischen Beobachtungen übereinstimmt.

Eine Motilitätshemmung der Spermatozoen sollte aber mit einem verminderten Fruktoseverbrauch parallel gehen. Im Gegensatz dazu ist der Fruktoseabbau im Spermaplasma der mykoplasmeninfizierten Ejakulate jedoch größer. Dies bedeutet, daß entweder die Spermatozoen de facto mehr Fruktose mobilisieren, obwohl ihre Motilität gehemmt wird, d.h. es käme zu einer Entgleisung des Spermatozoenstoffwechsels, oder aber, daß die Mykoplasmen selbst zur Fruktolyse fähig sind.

Wir konnten zeigen, daß Mykoplasmen zur Fruktolyse fähig sind. Daraus ergibt sich, daß die beobachtete vermehrte Fruktolyse im mykoplasmeninfizierten Ejakulaten nicht Ursache einer vermehrten Stoffwechselleistung der Spermatozoen, sondern auf die fruktolytische Aktivität der Mykoplasmen zurückzuführen ist.

Der Fruktoseverbrauch durch Mykoplasmen spielt aber bei der Erklärung der Motilitätshemmung der Spermatozoen keine entscheidende Rolle, da der Verbrauch (nach 5 Stunden durchschnittlich 16%, nach 24 Stunden 26%) relativ gering ist, d.h. es würde genügend Fruktose für den Stoffwechsel der Spermatozoen übrig bleiben.

Wenn man aber bedenkt, daß Mykoplasmen im Ejakulat nach 5 Stunden 16% und nach 24 Stunden 24% der Fruktose verbraucht haben, die Spermatozoen ohne Mykoplasmenzusatz nach 5 Stunden 12% und nach 24 Stunden 25% und diese jeweiligen Werte addiert, so würde man einen Gesamtverbrauch an Fruktose von 28% nach 5 Stunden und 49% nach 24 Stunden erhalten. Wie unsere Untersuchungen aber zeigten, entspricht zwar der Verbrauch im Testansatz nach 5 Stunden dem errechneten Verbrauch, nach 24 Stunden haben wir aber einen geringeren Verbrauch von 9%. Daraus läßt sich schließen,

daß die Spermatozoen infolge der Motilitätshemmung weniger Fruktose verbraucht haben.

Unsere elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten eine Affinität genitaler, humaner Mykoplasmenstämme zu bestimmten Membranstrukturen der Spermatozoen und gleichzeitig auffallende autolytische Veränderungen. Dies könnte bedeuten, daß die Mykoplasmen über fermentative Prozesse zur Zerstörung der Spermatozoen führen, wobei der Motilitätsverlust als erste Stufe in diesem Geschehen zu betrachten wäre.

F. Z u s a m m e n f a s s u n g

Mykoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, Mykoplasma fermentans, Mykoplasma orale und Mykoplasma gallisepticum beeinträchtigen die Motilität der Spermatozoen. Bedingt durch die Motilitätshemmung läßt die Stoffwechselaktivität der Spermatozoen unter dem Einfluß von Mykoplasmen nach, das heißt, sie verbrauchen weniger Fruktose aus dem Spermaplasma. Außerdem konnte gezeigt werden, daß Mykoplasmen selbst zur Fruktolyse fähig sind. Unsere elektronenmikroskopischen Untersuchungen ließen erkennen, daß genitale humane Mykoplasmenstämme eine Affinität zu bestimmten Membranstrukturen der Spermatozoen haben und dabei möglicherweise mit Hilfe bestimmter Enzyme autolytische Veränderungen an den Spermatozoen hervorrufen.

G. L i t e r a t u r

1. BERCHTOLD M., K. BÖGEL: Reversible Azoospermie bei Bullen und pleuropneumonieähnliche Organismen (PPLO) Schweizer Archiv für Tierheilkunde Band 104, 2, S 77 (1962)
2. BLENK H., G. WICHMANN, B.TH. RHODE, B. BRAUN: Vorkommen von Mykoplasmen in der Harnröhre von gesunden Männern. Mykoplasmen Symposion des Münchner Arbeitskreises, München (1974)
3. FURNESS G., J. WHITESCARVER, M. TROCALA, M. DEMAGGIO: Morphology, Ultrastructure, and Mode of Division of Mykoplasma fermentans, Mykoplasma hominis, Mykoplasma orale and Mykoplasma salivarium. The Journal of Infection Diseases Vol. 134 No 3 (September 1976)
4. GNARPE H., I. FRIBERG: T- mycoplasmas as a possible cause for reproductive failure. Nature 242, 120 (1973).
5. HOFSTETTER A.: Mykoplasmen als Ursache entzündlicher Erkrankungen des Urogenitaltraktes. Habilitationsschrift (1972)
6. HOFSTETTER A.: Mykoplasmen bei entzündlichen Erkrankungen des Urogenitaltraktes. Mykoplasmen Symposion des Münchner Arbeitskreises, München (1973)
7. HOFSTETTER, A., H. J. VOGT, R. GRAF: Mykoplasmen und Fertilität des Mannes. Helv. chir. Acta 38 471 (1971)

8. HOLZMANN A., G. LABER: Experimentally induced mycoplasmal infection in the genital tract of the male dog. *Theriogenology* Vol 7 No 4, 167 (1977)
9. HORNE H., R. B. KUNDSIN: *Ureaplasma urealyticum* and infertility.
1. st. Meeting of I O M Glasgow (1976)
10. MARX F. J., A. HOFSTETTER: Mykoplasmen-Prostato-Urethritis.
Mykoplasmen Symposium des Münchner Arbeitskreises München (1974)
11. MOLNAR GY, A. MOLNAR, J. SZITA, L. STIPKOVITS, J. MOLNAR: Examination of mycoplasmas in semen of infertile men.
1. st. Meeting of I O M Glasgow (1976)
12. NENNSTIEL H.J., R. ALICH: Fructosebestimmung im Ejakulat mittels Mikrolitersystem.
Ärzt. Lab. 15, 197 (1969)
13. O'LEARY W.M., J. FRICK: Einfluß von Mykoplasmen auf die männliche Fertilität, *aktuelle urologie* 7, 121 (1976)
14. SCHILL W. B.: Fructosebestimmung im Spermaplasma
Med. Klin. 71, 1031 (1976)
15. SCHIRREN C.: *Praktische Andrologie*,
Hartmann, Berlin (1971)
16. STEFANINI R., C. DE MARTINO, A.L. JOMBINI:
Fixation of ejaculated Spermatozoa for electron microscopy.
Nature 216, 173 (1967)

17. VOGT H.J., A. HOFSTETTER, R. GRAF:
Mykoplasmennachweis in der Fertilitätsdiagnostik.
3 rd European Congress of Sterility, Athen (1972)
18. VOGT H. J.: Mykoplasmen und Fertilität des Mannes.
Mykoplasmen Symposion des Münchner Arbeitskreises
München (1973)

Danksagung

Herrn Prof. Dr. A. Hofstetter möchte ich für die Überlassung des Themas und für die stete Förderung der vorliegenden Arbeit danken, sowie für die anregenden und weiterführenden Diskussionen.

Bei Herrn Prof. Dr. E. Schmiedt bedanke ich mich dafür, daß ich die Arbeit an der Urologischen Universitätsklinik durchführen konnte.

Zahlreichen Mitarbeitern der Urologischen und Dermatologischen Klinik bin ich für die Hilfe bei der Durchführung des experimentellen Teils der Arbeit zu Dank verpflichtet; so Herrn Dr. W. Hoppe für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche, Herrn Priv. Doz. Dr. W. B. Schill für nützliche Hinweise und Herrn Priv. Doz. Dr. H. H. Wolff für die Erstellung der elektronenmikroskopischen Photographien.

Lebenslauf

Am 17. 6. 1948 wurde ich als 2. Sohn des Regierungsamtmanns Ferdinand David und seiner Ehefrau Stephanie, geb. Pohl, in Bad Gögging geboren.

Von 1954 - 1959 besuchte ich die Volksschule in Kelheim-Hohenpfafl, von 1959 - 1968 das Gymnasium in Kelheim, wo ich im Juli 1968 die Reifeprüfung ablegte.

Nach fünf Semestern Studium der Rechts- und Wirtschaftswissenschaften in Regensburg begann ich im Sommersemester 1971 das Studium der Zahnmedizin in München. Im Sommersemester 1972 machte ich die naturwissenschaftliche zahnärztliche Vorprüfung. Im Wintersemester 1974/75 bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung. Die zahnärztliche Prüfung legte ich am 25. Januar 1978 vor dem Prüfungsausschuß in München ab.

Nachdem mir die Bestallung als Zahnarzt am 16.2.78 erteilt wurde, arbeite ich seit 20. Februar 1978 als Assistent in einer zahnärztlichen Praxis in München.

